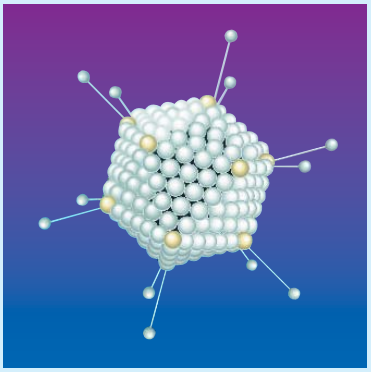
Clontech

組換えアデノウイルスを用いる遺伝子発現システム

Adeno-X™ Expression System

- 高レベルの一過性遺伝子発現を実現
- 広範囲の哺乳類細胞に効率よく感染
- ウイルス精製用、力価測定用キットも各種ご用意

アデノウイルス発現系の特長



アデノウイルスの構造

アデノウイルスは、正20面体の頂点に位置する12個のペントンおよびファイバーと各面の240個のヘキソンから成るキャプシドタンパク質、および約36 kbの直鎖状二本鎖ウイルスDNAから構成されています。

- 高い遺伝子導入効率
- 高レベルの一過性遺伝子発現を実現
- 高力価ウイルスの作製が可能
- 広範な組織および細胞種に感染可能

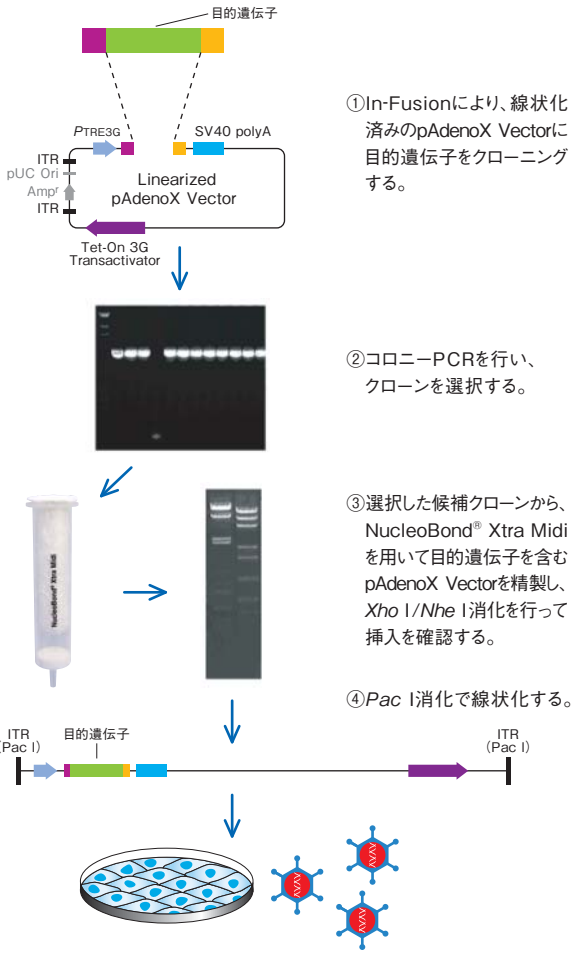
組換えアデノウイルスは、受容体CARを介したエンドサイトーシスにより細胞内に侵入し、エピソームとして留まり、ゲノムに組み込まれずに目的遺伝子を一過性に発現させることができます。大部分のヒト由来細胞に感染する(*1)ほか、マウス、ラット、イヌ、ニワトリ、ウサギ、ヒツジ、ブタなどヒト以外の種にも広く感染する能力を有しています。また、分裂細胞、非分裂細胞を問わず、株化細胞や初代培養細胞にも感染させることができます。組換えアデノウイルスを用いる遺伝子導入法は非常に優れた遺伝子導入法の一つであり、広範囲の宿主細胞に感染が可能で、高い遺伝子導入効率を実現するため、動物個体を用いた実験にも利用されています。

*1：CARの発現レベルが低い血球系細胞では感染が起こりにくい傾向が見られます。

組換えアデノウイルス発現システム
Adeno-X™ Adenoviral System 3

- In-Fusionクローニングシステムにより、簡便かつ迅速に組換えアデノウイルスベクターを構築
- 既存発現カセットや自作した発現カセットも挿入できる高い柔軟性

操作の流れ



Adeno-X™ Adenoviral System 3は、In-Fusionクローニングシステムを利用して、簡便かつ迅速に、効率よく組換えアデノウイルスベクターを構築できるシステムです。
通常のプラスミドDNAへのクローニングと同じように、シャトルベクターを経ることなく目的遺伝子を直接導入できます。クローニングに要する時間はわずか2～3日です。

Adeno-X™ Adenoviral System 3は下記の7種類の発現フォーマットから選択することができます。

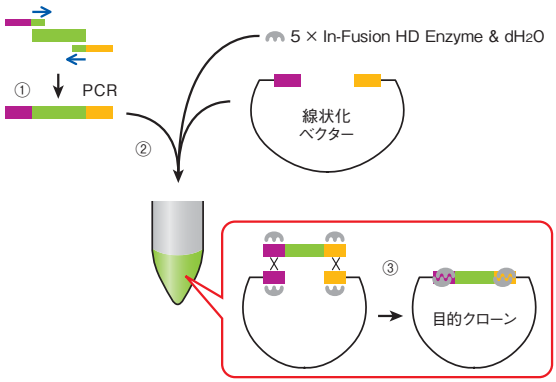
製品名	製品コード	プロモーター	蛍光タンパク質
Adeno-X™ Adenoviral System 3 (CMV)	632269	CMV	なし
Adeno-X™ Adenoviral System 3 (CMV, Red)	632268	CMV	DsRed-Express
Adeno-X™ Adenoviral System 3 (CMV, Green)	632267	CMV	ZsGreen1
Adeno-X™ Adenoviral System 3 (Universal)	632266	任意のプロモーター	なし
Adeno-X™ Adenoviral System 3 (Universal, Red)	632265	任意のプロモーター	DsRed-Express
Adeno-X™ Adenoviral System 3 (Universal, Green)	632264	任意のプロモーター	ZsGreen1
Adeno-X™ Adenoviral System 3 (Tet-On 3G Inducible)	631180	PTRE3G※	なし

※ドキシサイクリンにより発現誘導を制御できるプロモーター

〈製品内容〉

- Linearized pAdenoX Vector DNA(システム毎に異なる)
- Adeno-X™ Screening Primer Mix 3
- Adeno-X™ Control Fragment
- In-Fusion® HD Cloning Kit(製品コード 639648)
- NucleoSpin® Extract II(製品コード 740609.10)
- Stellar™ Competent Cells(製品コード 636763)
- NucleoBond® Xtra Midi(製品コード 740410.10)

ベクター構築の迅速化を可能にした
In-Fusion® HD Cloning Kit



各Adeno-X™ Adenovirus System 3には、In-Fusion® HD Cloning Kit（製品コード　639648）が含まれます。ウイルスベクターへのクローニングにIn-Fusion法を用いることで、従来より迅速で簡便なベクター構築が可能です。

- **インサートの種類、クローニング部位、ベクターを選ばずディレクショナルにクローニング可能**
- **1回の反応で、複数DNA断片の同時クローニングも可能**
- **In-Fusion反応はわずか15分で完了**

〈プロトコール概要〉

①**In-Fusion酵素はDNA断片の末端15塩基の相同配列を融合**するため、ベクター上のクローニングしたい位置の両側15塩基とそれぞれ相補的な配列を付加したプライマーで目的遺伝子をPCR増幅する。

②制限酵素処理またはインバースPCRにより線状化ベクターを用意し、①のPCR産物とIn-Fusion酵素を混合する。

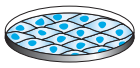
③50℃、15分のIn-Fusion反応によりシームレスかつ定方向にクローニングが完了

注:上記はIn-Fusion® HDクローニングキットのプロトール概要です。Adeno-X™ Adenovirus System 3 での使用方法は取扱説明書をご確認ください。

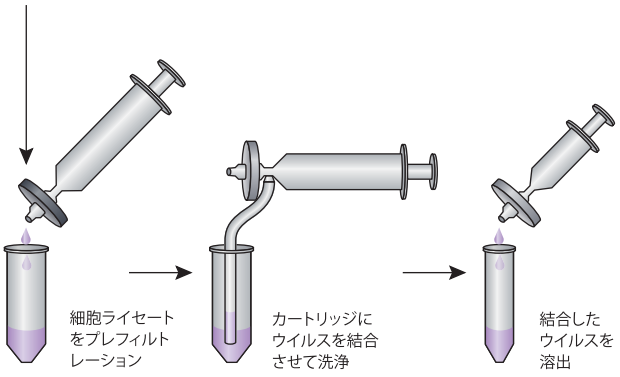
組換えアデノウイルスの精製　★培養スケールに合わせて適切な精製キットをご使用ください。

Adeno-X™ Maxi Purification Kit

- **超遠心操作は不要！クロマトグラフィーベースのアデノウイルス精製キット**
- **細胞ペレットから直接、最大1×10^{12}個のウイルス粒子を調製**

培養スケール:

×5枚
15 cmφプレート

細胞ペレットの凍結融解



Adeno-X™ Maxi Purification Kitは、細胞ペレットから直接、アデノウイルスを精製できるキットです。プロトコールに超遠心の工程はなく、アデノウイルスを選択的に結合するメンブレン吸着剤を使用するクロマトグラフィーにより、組換えアデノウイルスを効率よく精製します。

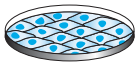
製品名	容量	製品コード
Adeno-X™ Maxi Purification Kit	2回	631532
Adeno-X™ Maxi Purification Kit	6回	631533

〈製品内容〉

- 1 × Equilibration Buffer
- 1 × Dilution Buffer
- 1 × Wash Buffer
- 1 × Elution Buffer
- Benzonase Nuclease
- Syringe-Tip Pre-filter
- Adeno-X™ Maxi Purification Assembly
- Syringes（5 ml, 20 ml）

Adeno-X™ Mega Purification Kit

- **強力なシリンジポンプにより、大容量の組換えアデノウイルスの精製が90分以内に完了**
- **細胞ペレットから、最大1×10^{13}個のウイルス粒子（～3×10^{11} IFU）を調製**

培養スケール:

×25枚
15 cmφプレート

GENIE Plusシリンジポンプ（製品コード 631033に添付）

製品名	容量	製品コード
Adeno-X™ Mega Purification Kit（with Pump）	2回	631033
Adeno-X™ Mega Purification Refill Kit	2回	631032

〈製品内容〉

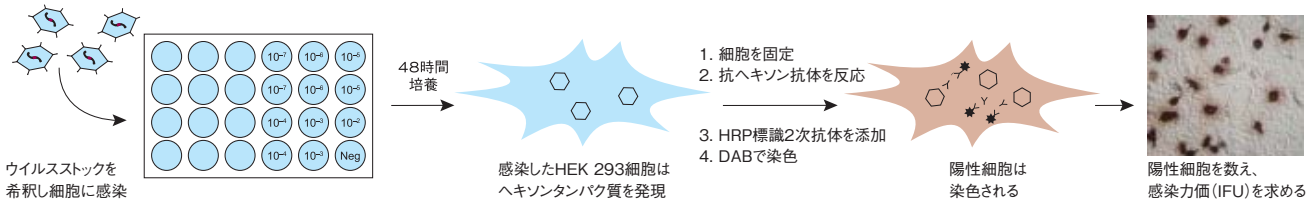
- 1 × Equilibration Buffer
- 1 × Dilution Buffer
- 1 × Wash Buffer
- 1 × Elution Buffer
- Benzonase Nuclease
- Adeno-X™ Mega Purification Assembly
- Stericup Filter Units
- Syringes（10 ml）
- GENIE Plus Syringe Pump（製品コード 631033のみ）

組換えアデノウイルスの力価測定

Adeno-X™ Rapid Titer Kit　製品コード 632250

● 組換えアデノウイルス力価を抗体染色法により3日間で測定

抗体染色法によりアデノウイルス力価を測定する本キットは、E1を欠損したあらゆる第一世代の組換えアデノウイルスに使用可能です。HEK 293細胞などE1をトランスに補完する細胞では感染細胞のみがヘキソンタンパク質を発現するため、ヘキソン特異的抗体により感染細胞を標識し、感染活性を測定することができます。感染細胞の標識、染色、計数に要する時間は約3時間と非常に短時間です（全工程は3日）。



■ 製品リスト

製品名	概要	容量	製品コード	価格（税別）	
組換えアデノウイルス発現システム3（In-Fusionタイプ）					
Adeno-X™ Adenoviral System 3（CMV）	In-Fusionクローニングを利用した組換えアデノウイルス作製システム 通常のプラスミドDNAへのクローニングと同様に、シャトルベクターを介さず、目的遺伝子を直接、pAdenoX Vectorに導入可能	1 Set	632269	¥156,000	
Adeno-X™ Adenoviral System 3（CMV, Red）			632268	¥177,000	ラ 営
Adeno-X™ Adenoviral System 3（CMV, Green）			632267	¥177,000	ラ 営
Adeno-X™ Adenoviral System 3（Universal）			632266	¥156,000	
Adeno-X™ Adenoviral System 3（Universal, Red）			632265	¥177,000	ラ 営
Adeno-X™ Adenoviral System 3（Universal, Green）			632264	¥177,000	ラ 営
Adeno-X™ Adenoviral System 3（Tet-On 3G Inducible）			631180	¥238,000	ラ 営
組換えアデノウイルス発現システム1（ライゲーションタイプ）					
Adeno-X™ Expression System 1	シンプルなin vitroライゲーション法を用いた組換えアデノウイルス作製システム	1 Set	631513	¥175,000	
Adeno-X™ System PCR Screening Primer Set	スクリーニング用プライマー	100回	631030	¥73,000	
Adeno-X™ System 1 Viral DNA（PI-Sce I/I-Ceu I digested）	制限酵素処理済のAdeno-X™ Viral DNA	20 µl	631026	¥162,000	
Adeno-X™ System 1 Accessory Kit	制限酵素、Double Digestion Buffer、BSAのセット	1 Set	631027	¥44,000	
組換えアデノウイルスを用いたshRNA導入／発現システム					
Knockout™ Adenoviral RNAi System 1	アデノウイルスを用いるshRNA発現システム	5回	631528	¥160,000	
組換えアデノウイルス精製キット					
Adeno-X™ Maxi Purification Kit	細胞ペレットから直接アデノウイルスを精製。 最大1×10^{12}個までのウイルス粒子を調製可能	2回	631532	¥78,000	
		6回	631533	¥228,000	
Adeno-X™ Mega Purification Kit（with Pump）	シリンジポンプを用いて、細胞ペレットから最大10^{13}個のウイルス粒子（～3×10^{11} IFU）を精製	2回	631033	¥430,000	
Adeno-X™ Mega Purification Refill Kit		2回	631032	¥228,000	
組換えアデノウイルス力価測定キット					
Adeno-X™ Rapid Titer Kit	ウイルス力価を抗体染色法により3日で測定	120回	632250	¥91,000	
Adeno-X™ qPCR Titration Kit	ウイルス力価（ゲノムDNAコピー数）をリアルタイムPCRで迅速測定	200回	632252	¥72,000	

ラ ご購入に際してライセンス確認書が必要となります。
営 営利施設の場合、ご購入前にライセンス（有償）を取得する必要があります。

In-Fusion Cloning Products : This product is covered by U.S. Patent No. 7,575,860 and European Patent No. EP1741787.
蛍光タンパク質、Tetシステムに関するライセンスやその他のライセンス（最新のライセンス情報）に関しては弊社ウェブサイトにてご確認ください。
本パンフレットに記載されている商品名等は、特に記載はなくても各社の商標、または登録商標です。
・本パンフレットで紹介した製品はすべて研究用として販売しております。ヒト、動物への医療、臨床診断用には使用しないようご注意ください。また、食品、化粧品、家庭用品等として使用しないでください。
・タカラバイオの承認を得ずに製品の再販・譲渡、再販・譲渡のための改変、商用製品の製造に使用することは禁止されています。
・本パンフレット記載の価格は2011年9月1日現在の希望小売価格です。価格に消費税は含まれておりません。

販売元
タカラバイオ株式会社
東日本販売課　TEL 03-3271-8553　FAX 03-3271-7282
西日本販売課　TEL 077-543-7297　FAX 077-543-7293

製造元
Clontech

TaKaRa テクニカルサポートライン
製品の技術的なご質問に専門の係がお応えします。
TEL 077-543-6116　FAX 077-543-1977
クロンテックウェブサイト　http://clontech.takara-bio.co.jp
タカラバイオウェブサイト　http://www.takara-bio.co.jp

取扱店

2011年9月作成20K